

大型陶瓷坛发酵剁辣椒风味及微生物的空间差异性分析

肖何¹, 尹含靓¹, 王馨瑶¹, 刘洋¹, 王蓉蓉¹, 蒋立文^{1,2*}

¹ 湖南农业大学食品科学技术学院 长沙 410128

² 广东省粤北食药资源利用与保护重点实验室 广东韶关 512000

摘要 以大型陶瓷坛发酵的剁辣椒为研究对象,采用高效液相色谱法测定其有机酸,并借助顶空固相微萃取-气质联用技术和高通量测序技术研究剁辣椒在陶瓷坛上、中、下 3 个空间层次挥发性物质和微生物的差异性。结果表明:各空间层次的有机酸、挥发性物质含量和微生物组成均差异显著($P<0.05$)。其中,总挥发性物质含量依次为上层>下层>中层,克雷伯菌属(*Klebsiella*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、四联球菌属(*Tetragenococcus*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)等是样品中的优势发酵菌属。相关性分析表明样品中多种菌属对有机酸和风味化合物的形成均有积极的影响。本研究揭示了剁辣椒在不同发酵空间层次上的差异,为提升工业化生产剁辣椒品质提供一定的理论依据。

关键词 剁辣椒; 有机酸; 挥发性物质; 微生物; 空间差异性

文章编号 1009-7848(2024)01-0278-13 **DOI**: 10.16429/j.1009-7848.2024.01.028

剁辣椒是一种传统发酵蔬菜食品,因其在发酵过程中产生特殊酸辣爽口的滋味,而备受消费者喜爱^[1]。传统的发酵剁辣椒一般是将新鲜辣椒清洗,晾干表面水分,去把、去蒂后,斩拌成一定大小的片型,加入一定比例食盐拌匀后入陶瓷坛厌氧发酵。此类加工方法一般仅供家庭自做自食用。当前工业化生产的剁辣椒主要是以高盐腌渍一定时间的新鲜辣椒为原料,经脱盐、调味、装瓶、真空、封口、杀菌加工而成^[2-3]。此法虽成本低,加工工艺简单,但脱盐会使产品丧失原始的发酵风味和营养物质。目前,产品发酵风味不足成为制约行业发展的短板。为了实现传统发酵食品产业升级,遵循古法发酵方式,保持传统产品风味保真性,采用大型陶瓷坛发酵剁辣椒,后续装瓶和灭菌,既能生产出具有传统发酵风味的剁辣椒,又能实现工业化生产。

发酵是一个动态过程,添加的食盐具有调整细胞渗透压的作用,使辣椒中的汁液流出,再加以重力作用,导致随着发酵时间的延长原料下沉,底部有大量汁液浸润,底部发酵处在固、液完全混合状态;中间部位虽有部分汁液流出,但仍以固相为

主,空气很少;上部处于固态和气态接触状态,水分较少。因此,不同发酵层次间存在差异,造成发酵品质不稳定。目前,有研究集中在白酒的不同发酵空间层次的风味和微生物差异方面。杨康卓等^[4]分析了五粮液原酒生产过程中的 9 种具有特殊香气贡献的芳香族化合物的空间分布规律,为其“按质并坛”工艺提供了新理论。王雪山等^[5]研究了清香型白酒发酵过程中不同发酵层次酒醅中的微生物种群结构及演替规律,结果发现不同层次酒醅微生物种群演替速率存在差异,且其乙醇产生速率不同,在一定程度上提升了白酒酿造的可控性及白酒品质的稳定性。Wang 等^[6]对 10 年和 1 年酒窖的上、中、下层微生物及挥发性物质进行比较,发现不同空间位置的不同微生物组成导致白酒风味存在差异。然而,关于发酵蔬菜不同空间层次的品质差异研究仍较少。

本研究采用大型陶瓷坛制作的剁辣椒为原料,通过添加或不添加复合保鲜剂,研究样品在不同空间层次上的风味和微生物差异性,并进一步探讨微生物与有机酸和挥发性物质的相关性,旨在为提升工业化生产剁辣椒的品质提供理论参考。

收稿日期: 2023-01-22

基金项目: 湖南特色发酵蔬菜加工关键技术及标准化研究与示范项目(2020NK2027)

第一作者: 肖何,男,硕士生

通信作者: 蒋立文 E-mail: hnjdlw@163.com

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

试验材料取自湖南坛坛香食品科技有限公司

试验基地。添加复合保鲜剂组:将辣椒剁碎后按其质量添加 15% 的食盐、0.05% 柠檬酸、0.01% 焦亚硫酸钠;不加复合保鲜剂组:将辣椒剁碎后按其质量添加 15% 的食盐。上述两组样品搅拌均匀后,分别装入大型陶瓷发酵坛(高度约 120 cm,直径约 60 cm)中进行发酵,每坛约 550 kg,待发酵成熟(1年)后取样。以坛缘入口物料最高处为取样基点,

坛子底部为取样最高点,分上、中、下 3 层取样,分别为距离基点 0~40 cm,40~80 cm,80~120 cm 处,每层样品取中心及周边 4 个点混合。添加和不添加复合保鲜剂的上、中、下分别命名为 FTS、FTZ、FTX 和 TS、TZ、TX,具体取样信息见图 1。取样后及时密封,并于 24 h 内冷藏运输至实验室用于样品分析。



图 1 样品取样信息

Fig.1 Sample sampling information

氯化钠、铬酸钾、氢氧化钠、无水乙醇、硝酸银、邻苯二甲酸氢钾、硝酸、酚酞均为分析纯级,国药集团化学试剂有限公司;甲醇、磷酸为色谱纯级,国药集团化学试剂有限公司;草酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、丁二酸、乳酸、酒石酸、二辛醇均为色谱纯级,上海源叶生物科技有限公司;Qubit ds-DNA HS Assay Kit, 美国 Invitrogen Life Technologies 公司;平板计数琼脂培养基,广东环凯微生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

7890B-5977A 气相色谱-质谱联用仪, 美国 Agilent 公司;HMS-901C 磁力加热搅拌器,深圳博大精科生物科技有限公司;Water Alliance E2695 超高效液相色谱仪, 美国沃特世公司;TG16-WS 台式高速离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;MiSeq pe300 测序仪, 美国 Illumina 公司;Tanon-2500 型电泳仪和凝胶成像仪, 上海天能公司。

1.3 试验方法

1.3.1 有机酸含量的测定 参考《食品安全国家标准 食品中有机酸的测定》(GB 5009.157-2016)^[7], 采用高效液相色谱进行测定。色谱条件:色谱柱:

Agilent TC-C18(2) 250 mm×4.6 mm;流动相:0.1%磷酸溶液:甲醇=97.5:2.5(体积比);流速:1.0 mL/min;柱温:40℃;进样量:20 μL;检测波长:210 nm。

1.3.2 挥发性成分的测定 参照 Xu 等^[8]方法并稍作修改。准确称取 2.5 g 剁辣椒样品置于 15 mL 顶空进样瓶中,加入 3 mL 饱和 NaCl 溶液,再加入 2-辛醇(20 μL,0.068 mg/mL)作为内标,用密封垫封口,涡旋振荡 30 s。随后将其放入 70℃加热块中平衡 15 min,使剁辣椒挥发性组分充分挥发。然后将 SPME 针插入萃取瓶中推出纤维头,保持 70℃顶空吸附 40 min,随后迅速将萃取头插入 GC 进样口,并推出纤维头,250℃解吸 5 min 后进行数据采集。

GC-MS 条件:色谱柱为 DB-5MS(30 m×250 μm,0.25 μm),载气为 He(99.999%),流速 1 mL/min;进样模式为不分流;进样口温度 250℃条件;升温条件为 40℃保持 3 min,以 5℃/min 升至 150℃,以 10℃/min 升至 250℃保持 5 min。离子源温度 230℃,电子能量 70 eV,质量扫描范围 m/z 33~500。用 AMDIS 对色谱图进行自动解卷积,得到的峰质谱图与 NIST 文库(NIST 2011)进行比较,并

在相同条件下测定正构烷烃标准品的保留时间,以此计算各色谱峰的保留指数,确定各个色谱峰对应的化合物。保留指数计算见公式(1),采用内标法进行定量,含量计算见公式(2)。

$$I=100 \times \left(n + \frac{t_i - t_n}{t_{n+1} - t_n} \right) \quad (1)$$

各挥发性物质含量($\mu\text{g}/\text{kg}$)=

$$\frac{\text{各组分峰面积} \times \text{内标物质量}(\mu\text{g})}{\text{内标峰面积} \times \text{样品质量}(\text{kg})} \quad (2)$$

式(1)中, I ——保留指数; n ——碳数; t_i ——待测挥发性成分保留时间,min; t_n ——具有 n 个碳原子的正构烷烃的保留时间,min; t_{n+1} ——具有 $n+1$ 个碳原子的正构烷烃的保留时间,min。

1.3.3 高通量测序方法 使用 OMEGA 土壤提取试剂盒对各样品总 DNA 进行提取,提取步骤均按试剂盒说明书完成。以剁辣椒总 DNA 为模板,进行细菌 16S rDNA V3-V4 区域扩增。引物为 338F (5'-ACTCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。PCR 扩增体系为 25 μL 包含 DNA 模板 25 ng,上、下游引物各为 2.5 μL 和 12.5 μL 的 PCR 预混合物。PCR 扩增条件为 98 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s,98 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s,54 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s,循环 35 次;最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。取 PCR 产物 10 μL ,用 2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测,随后将检测合格样品送至杭州联川生物技术有限公司进行高通量测序。

1.3.4 菌落总数的测定 参照《食品安全国家标准 菌落总数的测定》(GB 4789.2-2022)^[9]。

1.3.5 数据分析 每组试验均重复 3 次,结果以“平均值 \pm 标准差”表示。采用 SPSS 26 处理数据并进行显著性分析,使用 origin2021b 进行数据绘图。利用 OmicStudio 工具进行生物信息学分析和相关性分析(<https://www.omicstudio.cn/tool>)。

2 结果与分析

2.1 不同空间层次发酵剁辣椒的有机酸含量变化

不同有机酸具有不同的酸味特征^[10],其组成是衡量剁辣椒风味品质的重要指标。由表 1 可知,所有剁辣椒样品中含量最高的有机酸均为柠檬酸,占比高达 49.54%~60.06%。在空间层次上,两组样品中有机酸含量变化基本一致,上层的丁二酸含量均显著高于中层和下层($P<0.05$);中层的草酸含量显著高于上层和下层($P<0.05$);下层的苹果酸和乙酸含量均较低;且乳酸在下层均未检出,这可能是由于下层高浓度盐水在一定程度上抑制了乳酸菌的发酵。此外,添加复合保鲜剂组的草酸、乙酸、苹果酸、柠檬酸、乙二酸含量普遍高于不添加组,而不添加复合保鲜剂组只有乳酸含量高于添加组。导致这些差异的原因可能是加入柠檬酸和焦亚硫酸钠对微生物发酵产生一定影响,后续将对其进行相关性分析。

表 1 不同空间层次有机酸含量(g/kg)

Table 1 The content of organic acids in different spatial levels (g/kg)

有机酸含量	TS	TZ	TX	FTS	FTZ	FTX
草酸	0.67 \pm 0.01 ^b	0.85 \pm 0.03 ^c	0.49 \pm 0.02 ^a	0.69 \pm 0.01 ^b	1.04 \pm 0.01 ^d	0.71 \pm 0.17 ^{bc}
苹果酸	1.13 \pm 0.03 ^c	1.13 \pm 0.09 ^c	0.73 \pm 0.06 ^a	1.05 \pm 0.01 ^c	1.03 \pm 0.00 ^c	0.84 \pm 0.05 ^b
乳酸	0.11 \pm 0.01 ^b	0.15 \pm 0.01 ^c	-	0.06 \pm 0.01 ^a	0.07 \pm 0.01 ^a	-
乙酸	0.55 \pm 0.06 ^b	0.74 \pm 0.01 ^c	0.18 \pm 0.02 ^a	1.08 \pm 0.03 ^c	0.94 \pm 0.01 ^d	0.74 \pm 0.01 ^c
柠檬酸	5.54 \pm 0.11 ^b	5.69 \pm 0.27 ^b	4.12 \pm 0.01 ^a	5.44 \pm 0.00 ^b	6.51 \pm 0.00 ^c	5.69 \pm 0.07 ^b
丁二酸	2.86 \pm 0.06 ^d	2.17 \pm 0.32 ^b	1.34 \pm 0.03 ^a	2.66 \pm 0.01 ^{cd}	2.54 \pm 0.02 ^c	2.11 \pm 0.03 ^b
总量	10.87	10.74	6.86	10.98	12.13	10.09

注: -, 未检出。同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 不同空间层次挥发性物质分析

通过 GC-MS 对 6 组样品的挥发性物质进行检测,其总离子流色谱图如图 2 所示,各样品检出的挥发性物质种类及含量见表 2。从表中可看出,6 组样品中共检出 64 种挥发性物质,包括 11 种

醇类、4 种醛类、8 种萜烯、10 种烷烃、25 种酯类及 6 种其它物质。然而,各组样品的挥发性物质种类存在差异,其中 TS 检出 36 种、TZ 30 种、TX 32 种、FTS 40 种、FTZ 26 种、FTX 28 种。6 组样品中共有 13 种物质为共有的挥发性物质,分别为 4-

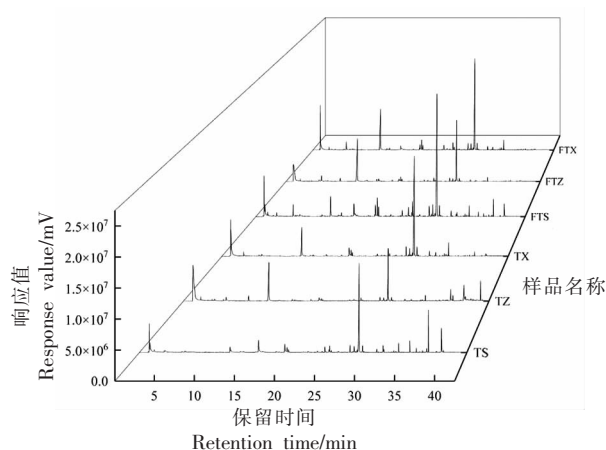


图 2 不同空间层次挥发性成分总离子流色谱图
Fig.2 Total ion chromatogram of volatile components in different spatial layers

甲基-1-戊醇、 α -松油醇、 α -喜马沙拉烯、 g -喜马沙拉烯、(+)-香橙烯、2-甲基十四烷、十六烷、2-甲基十六烷、十七烷、水杨酸甲酯、4-甲基戊基 2-甲基丁酸酯、棕榈酸甲酯、棕榈酸乙酯。总体而言,从空间层次上看,添加和不添加复合保鲜剂的上层样品挥发性物质种类均明显多于中层和下层。

由图 3 可知,各组样品挥发性物质含量也存在显著差异($P < 0.05$),含量从高到底依次为 TS (14 085.46 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、FTS (8 695.60 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、TX (2 220.60 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、FTX (1 502.34 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、TZ (735.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、FTZ (720.82 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。总体而言,两组样品在空间层次上皆为上层挥发性物质含量最高,其次为下层,中层含量最低。这可能由于上层主要为固态,水分较少且与气相接触,微生物有氧发酵较强烈;中层虽以固相为主,但含有部分汁液,导致微生物间可能存在竞争关系从而抑制发酵^[11];下层有大量汁液浸润,使发酵处在固液完全混合状态,更适合微生物厌氧发酵,且发酵汁液富含营养物质。上述差异使各空间层次微生物组成不同,从而导致发酵程度存在差异。然而,对于同一空间层次而言,不添加复合保鲜剂组的挥发性物质含量均高于添加组,表明复合保鲜剂在一定程度上能抑制发酵,从而减少挥发性物质的生成。

结合表 2 和图 3 可发现各组样品挥发性物质组成相似,其最主要的挥发性物质均为萜烯类,其次分别是酯类、烷烃类、醇类、醛类。萜烯类化合物

大都阈值较低,对风味贡献较大^[12]。从空间层次上看,萜烯类化合物的含量为上层>下层>中层。对于添加或不添加复合保鲜剂组,除不添加组上层样品萜烯类物质含量高于添加组外,两组样品在中层和下层并无明显差异。各组样品中最主要的萜烯类物质均为(+)-香橙烯,其具有较强烈的果香、花香等香气特征,是辣椒及其制品中的主要挥发性物质之一^[13-15]。酯类物质被认为是发酵食品中令人愉悦的甜味和果味香气的重要来源^[16]。所有样品中均检出水杨酸甲酯、4-甲基戊基 2-甲基丁酸酯、棕榈酸甲酯和棕榈酸乙酯,使得剁辣椒具有辣椒香气特征的“青”和“刺激”气味^[13]。对于酯类物质而言,从空间层次上其含量依次为上层>下层>中层,且对于同一空间层次而言,不添加复合保鲜剂组其酯类含量普遍高于添加组。尽管烷烃类化合物在各样品中均存在,但由于其气味阈值高,认为其对香气并无显著影响^[17]。所有样品中醇类化合物均以异戊醇、4-甲基-1-戊醇、 α -松油醇、苯甲醇、芳樟醇为主,它们都具有特殊香气,且阈值较低,赋予发酵辣椒香气作用较大,如异戊醇具有辣的味道,并带有醇香、醚香、香蕉香;苯乙醇具有新鲜面包香,清甜的玫瑰花香^[18];芳樟醇带有浓青带甜的木青气息,似玫瑰木。从空间层次来看,上层样品醇类化合物含量最高,其次为下层,中层含量最低;而添加和不添加复合保鲜剂对样品中醇类化合物含量无明显影响。总之,样品中风味化合物存在差异可能是由于不同空间层次微生物的差异造成的^[19]。

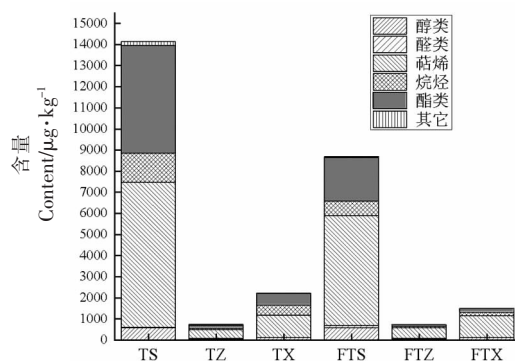


图 3 不同空间层次挥发性物质含量
Fig.3 The content of volatile substances in different spatial layers

表2 不同空间层次挥发性成分化学组成与含量
Table 2 The chemical composition and content of volatile components in different spatial levels

序号	挥发性成分	RI	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$								
			TS	TZ	TX	FTS	FTZ	FTX			
醇类											
1	异戊醇	781	199.82 ± 27.38	-	-	85.14 ± 16.89	3.62 ± 1.14	-	-	-	-
2	4-甲基-1-戊醇	851	199.94 ± 15.06	31.40 ± 1.64	48.09 ± 6.80	290.98 ± 62.32	30.86 ± 3.92	58.25 ± 5.54	-	-	-
3	反-3-己烯醇	866	-	-	-	24.33 ± 5.88	-	-	-	-	-
4	辛醇	1047	-	-	-	81.01 ± 15.46	-	-	-	-	17.99 ± 3.05
5	苯乙醇	1128	-	3.58 ± 0.01	-	66.92 ± 11.76	-	-	-	-	-
6	α -松油醇	1202	37.84 ± 5.48	4.47 ± 0.62	10.76 ± 1.77	44.06 ± 5.72	10.91 ± 0.48	9.15 ± 1.23	-	-	-
7	1-十一醇	2160	-	-	-	0.20 ± 0.01	3.17 ± 0.22	0.61 ± 0.11	-	-	-
8	苯甲醇	1043	143.15 ± 7.62	11.12 ± 1.20	33.52 ± 3.00	0.24 ± 0.02	0.13 ± 0.01	-	-	-	-
9	芳樟醇	1112	-	9.26 ± 0.40	27.41 ± 0.72	-	13.06 ± 0.33	29.38 ± 2.58	-	-	-
10	正己醇	880	-	-	-	-	5.93 ± 1.77	-	-	-	-
11	3-己烯-1-醇	870	-	-	-	-	-	8.59 ± 0.06	-	-	-
	共计		595.81	59.83	119.79	592.44	67.56	123.36	-	-	-
醛类											
12	苯甲醛	966	-	-	-	37.02 ± 2.74	-	-	-	-	-
13	苯乙醛	1051	33.22 ± 4.07	4.62 ± 0.11	-	32.47 ± 6.57	5.15 ± 0.54	4.34 ± 0.66	-	-	-
14	壬醛	1112	-	5.77 ± 2.08	-	-	-	-	-	-	-
15	正十五醛	1690	-	6.61 ± 0.74	-	26.72 ± 3.25	6.25 ± 0.49	9.22 ± 1.13	-	-	-
	共计		33.22	17.00	0	96.20	11.39	13.56	-	-	-
萜烯											
16	3-萜烯	1055	77.96 ± 5.02	2.53 ± 0.34	-	-	-	-	-	-	-
17	α -喜马沙拉烯	1480	39.15 ± 8.01	3.38 ± 0.47	15.01 ± 0.48	26.72 ± 5.91	15.22 ± 2.40	6.20 ± 1.21	-	-	-
18	<i>g</i> -喜马沙拉烯	1486	130.18 ± 21.85	7.09 ± 1.02	38.09 ± 0.51	79.20 ± 22.11	7.85 ± 1.14	17.17 ± 2.58	-	-	-
19	(+)-香橙烯	1494	6614.55 ± 83.93	395.57 ± 24.29	956.30 ± 65.28	4961.25 ± 71.64	471.46 ± 30.30	969.08 ± 5.18	-	-	-
20	罗勒烯	1046	-	-	16.65 ± 0.89	74.15 ± 4.48	-	12.35 ± 0.61	-	-	-
21	(+)- α -长叶萜烯	1381	-	-	6.13 ± 0.03	16.65 ± 0.32	-	-	-	-	-
22	巴伦西亚橘烯	1410	-	-	6.20 ± 0.18	-	-	-	-	-	-
23	金合欢烯	1468	-	-	16.37 ± 0.52	46.66 ± 0.47	3.13 ± 0.32	8.87 ± 0.75	-	-	-
	共计		6861.85	408.58	1054.76	5204.62	497.66	1013.67	-	-	-
烷烃											
24	丙基环丙烷	879	53.81 ± 12.99	5.53 ± 0.35	9.64 ± 1.61	-	-	10.84 ± 0.64	-	-	-
25	2-甲基十三烷	1373	397.76 ± 14.21	16.35 ± 2.51	81.00 ± 2.26	-	16.36 ± 1.81	40.95 ± 0.75	-	-	-
26	十四烷	1409	57.87 ± 2.21	-	10.98 ± 0.73	35.67 ± 0.23	2.26 ± 0.10	5.54 ± 0.33	-	-	-
27	2-甲基十四烷	1474	349.8 ± 4.15	15.77 ± 2.33	81.77 ± 1.53	258.45 ± 2.91	14.38 ± 0.42	35.02 ± 0.29	-	-	-
28	十五烷	1510	-	-	75.45 ± 0.89	-	-	-	-	-	-
29	2-甲基十五烷	1576	-	9.36 ± 0.66	50.77 ± 1.49	94.60 ± 4.33	8.79 ± 1.67	18.56 ± 0.59	-	-	-
30	3-甲基十五烷	1582	30.23 ± 0.62	-	10.1 ± 1.16	-	-	-	-	-	-
31	十六烷	1611	121.12 ± 11.01	7.12 ± 0.39	35.27 ± 1.32	126.74 ± 8.02	6.29 ± 1.56	12.80 ± 0.41	-	-	-

(续表 2)

序号	挥发性成分	RI	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$						
			TS	TZ	TX	FTS	FTZ	FTX	
32	2-甲基十六烷	1 677	63.17 ± 6.70	4.26 ± 0.34	18.64 ± 0.98	32.61 ± 1.57	3.79 ± 1.07	7.58 ± 0.49	
33	十七烷	1 712	301.84 ± 51.19	24.72 ± 0.25	112.47 ± 13.2	139.45 ± 4.98	21.50 ± 0.69	38.63 ± 0.63	
	共计		1375.59	83.10	486.10	687.52	73.37	169.90	
酯类	2,4-己二烯酸乙酯	1 106	778.58 ± 19.55	-	-	318.66 ± 2.33	-	-	
35	苯甲酸乙酯	1 180	62.92 ± 5.39	-	-	25.40 ± 0.01	-	-	
36	水杨酸甲酯	1 203	651.84 ± 6.72	36.23 ± 4.43	172.91 ± 4.52	306.20 ± 18.95	25.61 ± 1.74	58.42 ± 7.33	
37	4-甲基戊基 2-甲基丁酸酯	1 209	281.15 ± 2.64	14.18 ± 0.17	59.94 ± 7.04	352.96 ± 9.53	17.24 ± 1.25	53.06 ± 3.41	
38	4-甲基异戊酸乙酯	1 214	190.19 ± 21.73	9.27 ± 0.54	-	137.8 ± 8.59	9.4 ± 1.14	26.00 ± 0.90	
39	水杨酸乙酯	1 278	38.34 ± 7.18	-	-	-	-	-	
40	4-甲基戊基 4-甲基戊酸酯	1 323	105.84 ± 5.08	6.34 ± 0.11	29.57 ± 4.65	-	7.14 ± 1.19	22.63 ± 4.27	
41	反式-4-癸烯酸乙酯	1 353	327.38 ± 1.63	-	-	188.04 ± 23.18	-	-	
42	癸酸乙酯	1 373	139.94 ± 3.54	-	-	82.37 ± 3.32	-	-	
43	月桂酸乙酯	1 607	270.51 ± 88.01	-	-	39.09 ± 1.85	-	-	
44	十四酸乙酯	1 808	320.37 ± 127.61	3.24 ± 0.11	6.54 ± 0.21	63.57 ± 7.97	-	-	
45	十五酸乙酯	1 873	125.3 ± 28.47	-	-	40.35 ± 7.47	-	-	
46	9-十六碳烯酸乙酯	1 925	87.58 ± 4.43	-	-	23.17 ± 2.32	-	-	
47	棕榈酸甲酯	1 942	43.47 ± 2.02	3.21 ± 0.50	8.89 ± 0.62	20.34 ± 1.55	2.74 ± 0.23	3.58 ± 0.47	
48	棕榈酸乙酯	1 978	944.45 ± 144.24	13.8 ± 0.80	26.32 ± 0.68	23.17 ± 2.32	4.90 ± 0.33	6.31 ± 1.18	
49	亚油酸乙酯	2 007	483.9 ± 30.42	-	88.35 ± 73.78	210.94 ± 2.46	3.81 ± 0.12	5.11 ± 0.98	
50	反油酸乙酯	2 186	216.10 ± 105.63	7.70 ± 1.65	-	140.46 ± 22.96	-	-	
51	十八酸乙酯	2 211	39.11 ± 19.7	-	-	-	-	-	
52	己二酸二辛酯	2 420	-	27.43 ± 22.15	-	-	-	-	
53	3-甲基丁酸 4-甲基戊酯	1 220	-	-	42.80 ± 1.43	-	-	-	
54	异戊酸乙酯	1 209	-	-	6.13 ± 0.45	-	-	-	
55	十三烷内酯	1 647	-	-	7.07 ± 0.15	-	-	-	
56	13-十四酸甲酯	1 696	-	-	111.44 ± 92.91	-	-	-	
57	2-甲基丁酸乙酯	860	-	-	-	21.06 ± 0.98	-	-	
58	异己酸乙酯	972	-	-	-	41.00 ± 4.94	-	-	
	共计		5 106.98	121.41	559.96	2062.92	70.84	175.11	
其它	愈创木酚	1 095	-	-	-	-	-	6.74 ± 1.52	
60	4-乙基愈创木酚	1 286	127.07 ± 15.42	-	-	-	-	-	
61	戊基酮	1 470	-	2.89 ± 0.80	-	-	-	-	
62	棕榈酸	1 979	-	40.35 ± 29.69	-	-	-	-	
63	异己酸	983	-	-	-	33.49 ± 1.08	-	-	
64	8-甲基-6-壬烯酸	1 336	-	-	-	21.01 ± 0.15	-	-	
	共计		127.07	43.23	0	54.50	0	6.74	

注: -, 未检出。

2.3 不同空间层次细菌多样性分析

2.3.1 α -多样性分析 从 α -多样性指数(表3)可知,每个样品的覆盖率(Coverage 指数)都在99%以上,说明测序深度基本覆盖所有细菌,表示本次测序结果能代表样本的真实情况^[20]。Chao1 和 Observed_otus 主要是估计群落中包含物种的数

目,Simpson 和 Shannon 指数主要是综合体现物种的丰富度和均匀度^[21]。从表中可看出,FTS 的 Chao1、Observed_otus、Shannon 和 Simpson 指数均显著低于其它样品($P<0.05$),表明 FTS 剁辣椒细菌种群多样性低于其它样品。

表3 不同空间层次细菌群落多样性指数统计

Table 3 Statistics of bacterial community diversity index in different spatial levels

样品	Observed_otus	Shannon	Simpson	Chao1	覆盖率/%
TS	331.75 ± 21.71 ^{ab}	3.75 ± 0.15 ^c	0.74 ± 0.02 ^d	331.84 ± 21.73 ^{ab}	99
TZ	328.75 ± 14.18 ^{ab}	3.53 ± 0.21 ^{bc}	0.68 ± 0.04 ^{bc}	328.82 ± 14.21 ^{ab}	99
TX	400.5 ± 19.24 ^c	3.58 ± 0.14 ^{bc}	0.67 ± 0.02 ^{bc}	401.25 ± 19.29 ^c	99
FTS	310.25 ± 22.93 ^a	2.94 ± 0.06 ^a	0.57 ± 0.01 ^a	311.64 ± 23.88 ^a	99
FTZ	363.5 ± 21.65 ^b	3.39 ± 0.06 ^b	0.65 ± 0.01 ^b	364.41 ± 22.43 ^b	99
FTX	355.5 ± 12.38 ^b	3.64 ± 0.04 ^c	0.70 ± 0.01 ^c	355.78 ± 12.38 ^b	99

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.3.2 β -多样性分析 细菌群落的主成分分析见图3。由图中可知,两坐标轴的贡献率之和为99.52%,能较好的反映剁辣椒样品的主要特征。其中,TS 和 FTS 与其它样品的距离均较远,说明其细菌菌群结构差异大,这种差异主要体现在样品的空间分布上。其次,两组样品间细菌菌群结构在上层也出现显著差异,表明影响细菌菌群结构的原因可能与空气接触有关,且添加与不添加复合保鲜剂对细菌菌群结构的影响差异主要体现在上层。

2.3.3 物种注释及分类 根据测序及物种注释结果,门分类水平上样品菌群差异结果见图5,属分类水平上样品菌群差异结果见图6。高通量测序显示所有剁辣椒中的细菌种群可归属于7个门,其中平均相对丰度 $>0.1\%$ 的仅有蓝藻菌门(Cyanobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes),其在样品中共占比超过99%。韩俊燕等^[22]也发现蓝藻菌门(Cyanobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria)是发酵辣椒的主要优势菌门。其中,蓝藻菌门(Cyanobacteria)在FTS中占比最高为66.14%,厚壁菌门(Firmicutes)在FTX占比最高为42.71%,变形菌门(Proteobacteria)在TS中占比最高为12.69%。

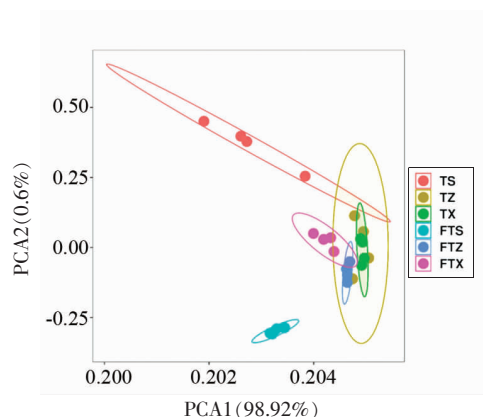


图4 不同空间层次细菌群落的主成分分析

Fig.4 Principal component analysis of bacterial communities in different spatial levels

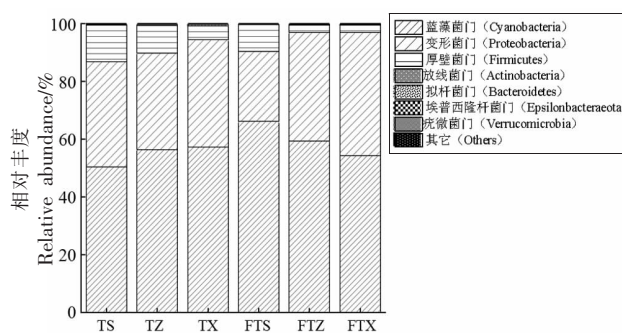


图5 门分类水平上的相对丰度

Fig.5 The relative abundance in the phylum level

如图 6 所示,在属分类水平上,未分类产氧光细菌(*Oxyphotobacteria_unclassified*)为 6 个样品的优势菌属,其在 TS、TZ、TX、FTS、FTZ 和 FTX 中相对丰度分别为 50.33%、56.40%、57.15%、66.14%、59.27%和 54.21%。未分类产氧光细菌(*Oxyphotobacteria_unclassified*)是一种好氧微生物^[23],其增殖可能与坛中剁辣椒间存在空隙有关,同时也与高通量测序检测时 DNA 编码区部分重叠有关,其并不是辣椒发酵的主要微生物。根瘤菌(*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*)相对丰度为 1.53%,是辣椒中主要的内生固氮菌之一^[24],主要存在于土壤与环境中,对发酵影响有限,不添加复合保鲜剂组普遍高于添加组,且越下层其含量越高。其在空间层次分布的差异与罗娜等^[24]在根瘤菌适宜低氧微环境的研究结果一致,其与检测方法有一定关系。

在上述主要微生物存在干扰的情况下,平均相对丰度>1%的菌属还有克雷伯菌属(*Klebsiella*)10.44%,肠杆菌属(*Enterobacter*)9.20%,泛菌属

(*Pantoea*)4.48%, 四联球菌(*Tetragenococcus*)2.94%,葡萄球菌(*Staphylococcus*)2.79%,其与产品品质密切相关。其中,克雷伯菌属对总酸的贡献最大^[25],能提高产品风味,在样品中占比依次为 TS>FTX>TX>FTZ>TZ>FTS。肠杆菌属一般为不致病菌或条件致病菌,是人体内的正常微生物,能产生短链脂肪酸和有机酸^[26],部分肠杆菌能利用糖酵解和戊糖磷酸途径对糖进行降解,其在样品中占比依次为 FTX>FTZ>TS>TX>TZ>FTS。葡萄球菌对于高盐及其它复杂环境具有较好的耐受力^[27],能将碳水化合物代谢为有机酸^[28],在样品中占比依次为 FTS>TZ>TS>TX>FTX>FTZ。四联球菌广泛存在于含盐的腌制类发酵食品中,是一种嗜盐乳酸菌^[29],可参与氨基酸的合成并生成醛、醇、酮和酯等挥发性风味物质,从而提升发酵食品的风味和口感^[30],在样品中占比依次为 TS>TZ>FTS>TX>FTZ>FTX,不添加复合保鲜剂组普遍高于添加组且越上层其含量越高。

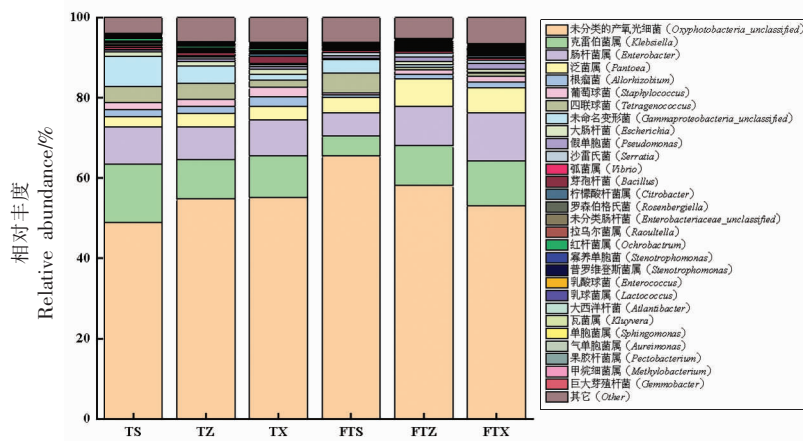


图 6 属分类水平上的相对丰度

Fig.6 The relative abundance in the genus taxonomic level

2.4 不同空间层次菌落总数差异

不同空间层次菌落总数差异如表 4 所示,可看出添加复合保鲜剂组菌落总数低于不添加组,这可能是由于蔬菜发酵过程中酸性条件利于部分微生物生长,从而抑制其它有害微生物的生长。这与丰度结果存在一定差异,表明可培养微生物与环境也存在密切关系。此外,不添加复合保鲜剂组的样品其下层菌落总数最高,为 2.5×10^4 CFU/g,而

添加组样品中,下层菌落总数却最低,仅为 2.7×10^3 CFU/g,这可能是由于保鲜剂溶于发酵汁并沉积于下层,对微生物起到了更好的抑制作用。

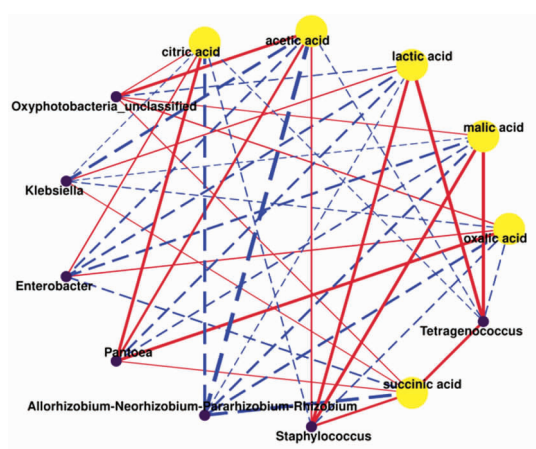
2.5 相关性分析

2.5.1 微生物与有机酸的相关性分析 对剁辣椒中相对丰度>1%的细菌属和 6 种有机酸进行了相关性分析。如图 7 所示,肠杆菌属(*Enterobacter*)和未分类产氧光细菌(*Oxyphotobacteria_unclassified*)

表4 不同空间层次菌落总数差异

Table 4 The differences in the total number of colonies at different spatial levels

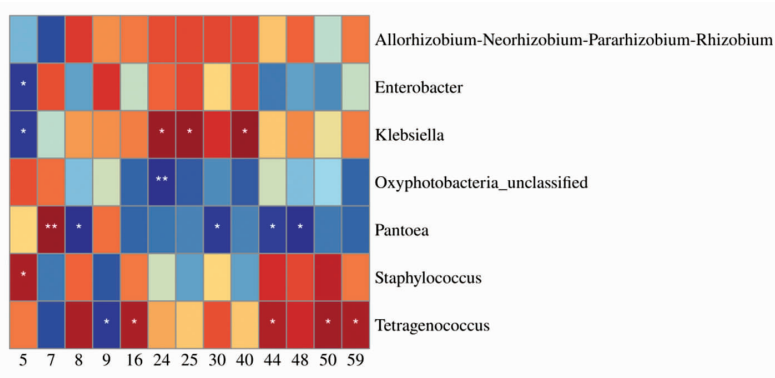
样品名	TS	TZ	TX	FTS	FTZ	FTX
菌落总数/CFU·g ⁻¹	(1.2±0.1)×10 ⁴	(2.0±0.1)×10 ⁴	(2.5±0.2)×10 ⁴	(3.5±0.6)×10 ³	(4.5±0.4)×10 ³	(2.7±0.2)×10 ³



注:黄色点为有机酸,紫色点为细菌属,红色连接线表示正相关,蓝色连接线表示负相关,连接线越粗表示相关性越强;未分类的产氧光细菌(*Oxyphotobacteria_unclassified*),克雷伯菌属(*Klebsiella*),肠杆菌属(*Enterobacter*),泛菌属(*Pantoea*),根瘤菌(*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*),葡萄球菌(*Staphylococcus*),柠檬酸(Citric acid),乳酸(Lactic acid),醋酸(Acetic acid),苹果酸(Malic acid),草酸(Oxalic acid)。

图7 细菌属与有机酸之间相关性分析

Fig.7 The correlation analysis between bacteria and organic acids



注:红色表示正相关,蓝色表示负相关,颜色越深相关性越强,“*”表示在0.05水平(双侧)上显著相关;“**”表示在0.01水平(双侧)上极显著相关;横坐标数字为表2中序号对应挥发性物质,未分类的产氧光细菌(*Oxyphotobacteria_unclassified*),克雷伯菌属(*Klebsiella*),肠杆菌属(*Enterobacter*),泛菌属(*Pantoea*),根瘤菌(*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*),葡萄球菌(*Staphylococcus*),四联球菌(*Tetragenococcus*)。

图8 细菌属与挥发性物质之间相关性分析

Fig.8 The correlation analysis between bacterial genera and volatile substances

可分别促进柠檬酸(Citric acid)和乙酸(Acetic acid)的产生。泛菌属(*Pantoea*)与草酸(Oxalic acid)、乙酸(Acetic acid)、柠檬酸(Citric acid)的产生具有相关性($P < 0.05$)。这与Zhao等^[31]的研究结果一致,泛菌属(*Pantoea*)是酒精发酵的主要微生物之一,可以促进乙酸的产生。葡萄球菌属(*Staphylococcus*)与乳酸呈正相关($P < 0.05$)。冯美琴等^[28]也发现葡萄球菌能够代谢碳水化合物,并将其转化为乳酸。而四联球菌(*Tetragenococcus*)与丁二酸(Succinic acid)、乳酸(Acetic acid)、苹果酸(Malic acid)的产生呈正相关($P < 0.05$)。这与房峻等^[32]发现嗜盐四联球菌可增加酱油中苹果酸、乳酸等的含量结果一致。

2.5.2 微生物与关键性挥发性成分的相关性分析 对剁辣椒样品中主要细菌属与挥发性物质进行了相关性分析。如图8所示,4个细菌属与9种挥发性物质呈显著正相关($P < 0.05$)。其中,四联球菌属(*Tetragenococcus*)与3-萜烯(16)、十四酸乙酯(44)、反油酸乙酯(50)、乙酸(59)呈显著正相关($P < 0.05$)。刘佳乐^[33]研究也发现嗜盐四联

球菌能促进酸类、酯类等风味物质的产生。克雷伯菌属(*Klebsiella*)与丙基环丙烷(24)、2-甲基十三烷(25)、4-甲基戊基 4-甲基戊酸酯(40)呈显著正相关($P<0.05$),说明其可能对烷烃类及酯类物质的产生具有一定的促进作用。泛菌属(*Pantoea*)可极显著促进 1-十一醇(7)的产生($P<0.01$),葡萄球菌属(*Staphylococcus*)与苯乙醇(5)的产生呈显著正相关($P<0.05$)。付晶晶^[34]也发现添加木糖葡萄球菌发酵香肚可增加醇类物质的种类及相对含量。可见,微生物对剁椒香气形成有重要作用。

3 结论

通过对大型陶瓷罐发酵的剁辣椒在不同空间层次上的差异进行研究,发现各空间层次的有机酸、挥发性物质含量和细菌组成均差异显著($P<0.05$)。在所有样品中共检出 64 种挥发性物质,其中萜烯类是最主要的挥发性物质,其次分别是酯类、烷烃类、醇类、醛类。各空间层次总挥发性物质含量依次为上层>下层>中层,且添加复合保鲜剂组相比于未添加组能一定程度上抑制挥发性物质的生成。未分类产氧光细菌、克雷伯菌属、肠杆菌属、泛菌属、四联球菌、葡萄球菌属、根瘤菌属是样品中的优势菌属,且添加保鲜剂能明显降低样品中的细菌菌落总数。其中,未分类产氧光细菌、肠杆菌属、四联球菌、泛菌属对有机酸产生的贡献较大;而四联球菌属、克雷伯菌属、泛菌属、葡萄球菌属对各种风味化合物的形成有积极影响,其具有作为核心功能微生物的潜力。本研究揭示了剁辣椒在不同发酵空间层次上的品质差异,为提升工业化生产剁辣椒品质提供一定的理论依据。

参 考 文 献

- [1] 许弯,刘伟,胡小琴,等. 湖南剁辣椒中优良乳酸菌的筛选鉴定及其发酵辣椒汁风味研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(8): 96-103.
XU W, LIU W, HU X Q, et al. Screening and identification of excellent lactic acid bacteria in Hunan chopped pepper and study on the flavor of fermented pepper juice[J]. Food Industry Science and Technology, 2020, 41(8): 96-103.
- [2] 胡博涵,吴晖,赖富饶,等. 耐盐乳酸菌的筛选及其在剁辣椒发酵中的应用[J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 51-70, 4.
HU B H, WU H, LAI F R, et al. Screening of salt-tolerant lactic acid bacteria and its application in the fermentation of chopped pepper[J]. Food and Machinery, 2014, 30(1): 51-70, 4.
- [3] 罗凤莲,夏延斌,王燕,等. 脱盐盐渍辣椒发酵工艺优化及风味品质研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2017, 43(1): 71-78.
LUO F L, XIA Y B, WANG Y, et al. Study on fermentation process optimization and flavor quality of desalted salted pepper[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Science Edition), 2017, 43(1): 71-78.
- [4] 杨康卓,刘芳,何张兰,等. 五粮液原酒中特殊芳香族化合物的空间分布[J]. 酿酒科技, 2021(5): 22-26.
YANG K Z, LIU F, HE Z L, et al. Spatial distribution of special aromatic compounds in Wuliangye wine [J]. Brewing Science and Technology, 2021(5): 22-26.
- [5] 王雪山,杜海,徐岩. 清香型白酒发酵过程中微生物种群空间分布[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(9): 1-8.
WANG X S, DU H, XU Y. Spatial distribution of microbial populations during fermentation of fragrant liquor[J]. Food and Fermentation Industry, 2018, 44(9): 1-8.
- [6] WANG C D, CHEN Q, WANG Q, et al. Long-term batch brewing accumulates adaptive microbes, which comprehensively produce more flavorful Chinese liquors[J]. Food Research International, 2014, 62: 894-901.
- [7] 国家卫生和计划生育委员会. 食品中有机酸的测定: GB 5009.157-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-5.
National Health and Family Planning Commission. Determination of organic acids in food: GB 5009.157-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 1-5.
- [8] XU X, WU B, ZHAO W, et al. Shifts in autochthonous microbial diversity and volatile metabolites during the fermentation of chili pepper (*Capsicum frutescens* L.) [J]. Food Chemistry, 2020, 335: 127512.
- [9] 国家卫生健康委员会. 食品中菌落总数的测定: GB

- 4789.2-2022[S]. 北京: 中国标准出版社, 2022: 1-7.
- National Health Commission. Determination of total bacterial count in food: GB 4789.2-2022[S]. Beijing: Standards Press of China, 2022: 1-7.
- [10] 李曦, 陈倩, 唐伟, 等. 苹果醋饮料中的有机酸分析[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(2): 220-225.
- LI X, CHEN Q, TANG W, et al. Analysis of organic acids in apple cider vinegar beverages[J]. Food and Fermentation Industry, 2017, 43(2): 220-225.
- [11] 周袁璐, 师苑, 陆跃乐, 等. 传统发酵过程微生物互作研究进展[J]. 中国食品学报, 2021, 21(11): 349-358.
- ZHOU Y L, SHI Y, LU Y L, et al. Research progress on microbial interaction in traditional fermentation process[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(11): 349-358.
- [12] 张蕾, 王杰, 罗理勇, 等. 老鹰茶特征性香气成分分析[J]. 食品科学, 2019, 40(10): 220-228.
- ZHANG L, WANG J, LUO L Y, et al. Analysis of characteristic aroma components of eagle tea[J]. Food Science, 2019, 40(10): 220-228.
- [13] 熊学斌, 夏延斌, 张晓, 等. 不同品种辣椒粉挥发性成分的GC-MS分析[J]. 食品工业科技, 2012, 33(16): 161-164.
- XIONG X B, XIA Y B, ZHANG X, et al. GC-MS analysis of volatile components in different varieties of chili powder[J]. Food Industry Science and Technology, 2012, 33(16): 161-164.
- [14] 聂紫玉, 陈莉, 周探春, 等. 盐渍辣椒汁成分分析与干椒复水制备辣椒酱工艺优化[J]. 中国酿造, 2021, 40(9): 63-69.
- NIE Z Y, CHEN L, ZHOU T C, et al. Composition analysis of salted chili juice and process optimization of chili sauce prepared by dry pepper rehydration[J]. China Brewing, 2021, 40(9): 63-69.
- [15] 王雪梅, 孙文佳, 李亚隆, 等. 不同产地鲜辣椒发酵郫县豆瓣的品质分析[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 213-221.
- WANG X M, SUN W J, LI Y L, et al. Quality analysis of Pixian Douban fermented with fresh peppers from different origins[J]. Food Science, 2020, 41(10): 213-221.
- [16] LEE K E, SANG M L, YONG H C. Comparative volatile profiles in soy sauce according to inoculated microorganisms [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2013, 77(11): 2192-2200.
- [17] 杨阳, 施文正, 汪之和. 加热温度对南美白对虾挥发性成分的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(22): 126-130.
- YANG Y, SHI W Z, WANG Z H. Effects of heating temperature on volatile components of *Penaeus vannamei*[J]. Food Science, 2015, 36(22): 126-130.
- [18] 周晓媛, 邓靖, 李福枝. 发酵辣椒挥发性成分分析及复合香味剂调配[J]. 中国食品学报, 2007, 7(3): 138-143.
- ZHOU X Y, DENG J, LI F Z. Analysis of volatile components of fermented pepper and formulation of compound flavors[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2007, 7(3): 138-143.
- [19] 胡峰, 钟方达, 胡建锋, 等. 酱香型白酒窖内不同层次酒醅微生物与酒体风格的研究[J]. 酿酒科技, 2014(9): 48-52.
- HU F, ZHONG F D, HU J F, et al. Study on the microbes of different levels of fermented grains and wine style in Maotai-flavor liquor cellars[J]. Wine-making Science and Technology, 2014(9): 48-52.
- [20] 苟萌, 胡婕, 张彤彤, 等. Illumina MiSeq高通量测序技术研究原料乳冷藏过程中微生物群落演替规律[J]. 中国食品学报, 2021, 21(7): 313-319.
- GOU M, HU J, ZHANG T T, et al. Illumina MiSeq high-throughput sequencing technology to study the succession of microbial communities during the cold storage of raw milk[J]. Chinese Journal of Food Science, 2021, 21(7): 313-319.
- [21] CHEN M, QIN Y, DENG F, et al. Illumina MiSeq sequencing reveals microbial community succession in salted peppers with different salinity during preservation[J]. Food Research International, 2021, 143(1): 110234.
- [22] 韩俊燕, 赵国忠, 赵建新, 等. 发酵辣椒细菌多样性的16S rDNA测序分析[J]. 中国食品学报, 2018, 18(5): 246-251.
- HAN J Y, ZHAO G Z, ZHAO J X, et al. 16S rDNA sequencing analysis of bacterial diversity in fermented pepper[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(5): 246-251.
- [23] SHIH P M, HEMP J, WARD L M, et al. Crown group oxyphotobacteria postdate the rise of oxygen[J].

- Geobiology, 2017, 15(1): 19–29.
- [24] 罗娜, 肖海兰, 鲁颂, 等. 辣椒内生固氮菌的分离鉴定与多样性分析[J]. 作物杂志, 2014(6): 52–56.
LUO N, XIAO H L, LU S, et al. Isolation, identification and diversity analysis of endophytic nitrogen-fixing bacteria in pepper[J]. Crop Journal, 2014(6): 52–56.
- [25] 于松峰, 郑宇, 杨帅, 等. 传统豆瓣辣酱发酵过程细菌群落演替与发酵过程的对应关系[J]. 中国调味品, 2017, 42(4): 53–58.
YU S F, ZHENG Y, YANG S, et al. Corresponding relationship between bacterial community succession and fermentation process during fermentation of traditional bean curd sauce[J]. China Condiments, 2017, 42(4): 53–58.
- [26] WALTERSON A M, STAVRINIDES J. Pantoea: Insights into a highly versatile and diverse genus within the Enterobacteriaceae[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2015, 39(6): 968–984.
- [27] 赵睿, 邵长春, 高世功, 等. 高通量测序分析不同腌腊肉制品细菌多样性[J]. 食品科学, 2020, 41(20): 90–96.
ZHAO R, SHAO C C, GAO S G, et al. High-throughput sequencing analysis of bacterial diversity in different cured meat products[J]. Food Science, 2020, 41(20): 90–96.
- [28] 冯美琴, 张杰, 孙健. 模仿葡萄球菌接种对发酵香肠品质及氧化稳定性的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(4): 105–112.
FENG M Q, ZHANG J, SUN J. The effect of *Staphylococcus aureus* inoculation on the quality and oxidative stability of fermented sausages [J]. Food Science, 2022, 43(4): 105–112.
- [29] LV X, LI Y, CUI T, et al. Bacterial community succession and volatile compound changes during fermentation of shrimp paste from Chinese Jinzhou region[J]. LWT–Food Science and Technology, 2019, 122: 108998.
- [30] 吴晓红, 高生平, 蒋彩云, 等. 榨菜发酵过程中原核微生物群落结构及其理化因子的动态演替[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(1): 27–34.
WU X H, GAO S P, JIANG C Y, et al. Dynamic succession of prokaryotic microbial community structure and its physicochemical factors during fermentation of mustard[J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(1): 27–34.
- [31] ZHAO C, SU W, MU Y, et al. Correlations between microbiota with physicochemical properties and volatile flavor components in black glutinous rice wine fermentation [J]. Food Research International, 2020, 138(Pt B): 109800.
- [32] 房峻, 刘佳乐, 彭玉慧, 等. 强化嗜盐四联球菌对模拟低盐酱油发酵的影响[J]. 中国酿造, 2020, 39(12): 146–152.
FANG J, LIU J L, PENG Y H, et al. Effects of fortified *Tetraphylococcus halophilus* on fermentation of simulated low-salt soy sauce[J]. China Brewing, 2020, 39(12): 146–152.
- [33] 刘佳乐, 周朝晖, 李铁桥, 等. 酱油发酵过程强化嗜盐四联球菌对酱油品质的影响[J]. 食品发酵工业, 2020, 46(17): 96–106.
LIU J L, ZHOU C H, LI T Q, et al. Effects of fortified *Tetrahydricoccus halophilus* on the quality of soy sauce during fermentation of soy sauce[J]. Food and Fermentation Industry, 2020, 46(17): 96–106.
- [34] 付晶晶, 王正雯, 潘道东, 等. 发酵香肠工艺优化及其风味成分的测定[J]. 核农学报, 2018, 32(7): 1384–1392.
FU J J, WANG Z W, PAN D D, et al. Optimization of fermentation process for fragrant belly and determination of flavor components[J]. Journal of Nuclear Agriculture, 2018, 32(7): 1384–1392.

Spatial Differences in Flavor and Microorganisms of Fermented Chopped Peppers in Large Ceramic Jars

Xiao He¹, Yin Hanliang¹, Wang Xinyao¹, Liu Yang¹, Wang Rongrong¹, Jiang Liwen^{1,2*}

¹College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128

²Guangdong Provincial Key Laboratory of Utilization and Conservation of Food and Medicinal Resources in Northern Region, Shaoguan 512000, Guangdong)

Abstract The fermented chopped pepper in a large ceramic jar was selected as the research object, its organic acids

were determined by high performance liquid chromatography, and the differences of volatile substances and microorganisms at the next three different spatial levels were analyzed by headspace solid-phase microextraction-GC-MS and high-throughput sequencing. The results showed that the organic acid and volatile matter content and microbial composition were significantly different at each spatial level ($P<0.05$). Among them, the content of total volatile substances was upper layer > lower layer > middle layer, and *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Tetragenococcus*, *Staphylococcus*, etc were the dominant fermentation bacteria. The correlation analysis showed that multiple species of bacteria in the samples had a positive effect on the formation of organic acids and flavor compounds. This study revealed the differences in the fermentation of chopped peppers at the spatial level, and provided a theoretical basis for improving the quality of chopped peppers in the industrialized production.

Keywords chopped pepper; organic acids; volatile substances; microorganisms; spatial differences